Ver.2.00

Beacle , Inc.

Signal Booster Immunostain

An immuno-reaction enhancing solution for immunostaining

取扱説明書

Beacle, Inc.　Kyoto　JAPAN

---- 目　次 ----

ご注意

1．本試薬は研究用試薬です。診断・臨床用試薬としては使用しないでください。
2．本試薬は組成濃度が最適化されていますので、希釈やブロッキング剤の添加等を行うと本来の性能が出ない場合がありますので、ご注意ください。
3．本試薬の内、Solution F は僅かに黄色が強くなっています。変質ではありませんので、ご安心ください。

⑴　はじめに

Signal Booster Immunostain は免疫組織染色、免疫細胞染色用に開発された抗原・抗体反応増強試薬です。免疫染色で問題となる染色不足や高いバックグラウンドを改善するための試薬で、普段お使いの手順の過程で、抗体の希釈液として利用するだけで簡単に特異的染色を強めることが出来ます。本製品は姉妹品である Signal Booster（ウェスタンブロッティングや ELISA 用）で培われた技術を元に、免疫染色用に特化した試薬として開発されました。

●本製品の特長●

1. 高い染色増強能・低いバックグラウンド

Signal Booster Immunostain は、免疫染色の染色不足を、抗原抗体反応を促進することによって改善します。また、バックグラウンドも低くなるように設計されていますので、高いS/N比を得ることができます。

2．高い汎用性

Signal Booster Immunostain は、種々の抗体へ利用可能なことは勿論、HRP(ペルオキシダーゼ)や AP(アルカリフォスファターゼ)などの標識酵素の活性に影響を与えませんので、これらを用いた検出系にも使用することができます。また、ABC 法等の増感システムと併用することも可能です。

3．使用方法が容易

Signal Booster Immunostain の使用法は通常使用している抗体希釈液を本試薬へ替えるだけです。本試薬は濃度調整済ですので、そのまま使用してください。

(ご注意： 抗体の特性によっては本試薬の効果が十分得られない場合もあります)

⑵　製品内容

本製品には以下の種類があります。本マニュアルは以下の製品総てに適用されます。

製品番号	構成	容量	希望販売価格
BCL-IS	Solution F、M、S の 3 種セット	各 10ml	10,000 円
BCL-ISF	Solution F	20ml	15,000 円
BCL-ISM	Solution M	20ml	15,000 円
BCL-ISS	Solution S	20ml	15,000 円

初めてご利用になる場合には、Solution F、M、S の 3 種セットのご購入をお勧めします。

⑶　構成試薬の特徴

Signal Booster Immunostain は 3 種類の溶液によって構成されています。

Solution F

バックグラウンドをより低下させるように設計された組成です。良好な抗体を用いて微細構造を見る場合にお勧めします。

Solution M

F と S の中間の性質を有した組成です。最初に試す場合に利用すると便利です。

Solution S

より強いシグナルを得るように設計された組成です。多少バックグラウンドが高くても染色像を見たい場合にお勧めします。

(ご注意： 上記の各溶液の性質は、一般的な性質を示したものであり、用いる抗体の特性によって反応は異なります)

⑷　パラフィン切片の免疫染色

使用参考例としてABC法を用いたペルオキシダーゼ化学発色による免疫組織染色法をご紹介します。キットをご利用になる場合で、二次抗体反応以降の手順がマニュアルに記載されている場合は、キットの手順に従ってください。

1. 作製したパラフィン切片を、キシレンを用いて脱パラフィンを行い、その後エタノール系列を用いて水相に戻します。
2. 蒸留水で5分以上洗浄します。
3. 内在性ペルオキシダーゼを内在性ペルオキシダーゼ失活処理液で失活処理します。
4. 蒸留水で5分間洗浄し、PBSで5分間の洗浄を2回行います。
5. ブロッキング液を切片を覆う量を載せて加湿チャンバー内で30分以上ブロッキングします。ブロッキング液は普段お使いのものをご利用ください。
6. 一次抗体を Signal Booster Immunostain のいずれかの液で希釈し、切片を覆う量を載せて加湿チャンバー内にて室温で60分もしくは、4°Cで一晩反応させます。
7. PBSで5分間の洗浄を3回行います。
8. ビオチン化した二次抗体を Signal Booster Immunostain のいずれかの液で希釈し、切片が覆われる量を載せて加湿チャンバー内にて室温で 30 分以上反応させます。この反応中、使用約30分前にアビジン―ビオチン化ペルオキシダーゼ複合体溶液を作っておきます。
9. PBSで5分間の洗浄を3回行います。
10. アビジンービオチン化ペルオキシダーゼ複合体溶液を切片が覆われる量を載せて加湿チャンバー内にて室温で30分間反応させます。
11. PBSで5分間の洗浄を3回行います。
12. 発色基質溶液を用いて発色させます。
13. 反応停止後、封入剤で封入し、顕微鏡で観察してください。

⑸　凍結切片の免疫染色

凍結切片の場合は切片の洗浄後、パラホルムアルデヒドなどで固定を行ってください。固定切片をPBSで洗浄した後はパラフィン切片の染色法の3、以降を行ってください。

⑹　培養細胞の蛍光染色

培養細胞を直接固定し、蛍光染色する方法の一例を示します。

1. ディッシュやプレートに培養した細胞の培地を除きPBSで一回洗浄します。
2. リン酸緩衝液で中性に調整した4%パラホルムアルデヒド溶液を加え、室温で30分間固定します。
3. PBSで5分間の洗浄を3回行います。
4. ブロッキング液を加えて室温で30分間ブロッキングします。
5. PBSで5分間洗浄します。
6. 一次抗体をSignal Booster Immunostainのいずれかの液で希釈し、室温で60分以上もしくは、4°Cで一晩反応させます。
7. PBSで5分間の洗浄を3回行います。
8. 蛍光標識した二次抗体をSignal Booster Immunostainのいずれかの液で希釈し、室温で60分間反応させます。
9. PBSで5分間の洗浄を3回行います。
10. PBSを適量入れた状態にて蛍光顕微鏡で観察してください。

（ご注意：抗体の希釈液として、本試薬に FBS やタンパク質溶液などを混合してご利用になる場合には、本試薬による増強効果が見られない場合がありますので、ご注意ください。）

⑺　トラブルシューティング

トラブル	原因と対策
シグナルが弱い	1. 抗原タンパク質が少ない。切片の薄切後、抗原たんぱく質が流出している可能性があります。固定方法や固定までの手順を検討してください。
	2. 抗体濃度が低い。最適な抗体濃度を検討してください。
	3. 抗原たんぱく質がマスキングされている。抗原の賦活化処理を行ってください。
	4. ブロッキングが強すぎる。オーバーナイトなどでブロッキングを強くしすぎるとシグナルが弱くなる場合があります。また、ブロッキング液の種類や濃度も再検討してみてください。
	5. 洗浄が過剰。洗浄時間、回数、洗浄液の組成（界面活性剤濃度等）を検討してください。
バックグラウンドが高い、非特異的染色が生じる	6. 抗体濃度が高すぎる。過剰な抗体添加により、非特異的なシグナルが増大することがあります。最適な抗体濃度を検討してください。
	7. 内在性ペルオキシダーゼ活性の残存。ペルオキシダーゼ化学発色を用いる場合、失活処理の時間を長くするか、失活条件をより強いものにしてください。
	8. ブロッキングが不十分。抗原や抗体によっては、ブロッキング剤に大きく依存します。ブロッキング剤の種類、濃度やブロッキング時間の検討を行ってください。
	9. 洗浄が不十分。洗浄回数や洗浄時間を増やしてください。
	10. 抗体濃度が高い、或いはインキュベーション時間が長い。シグナルが見えるがバックグラウンドも高い場合、抗体濃度を低くするか、抗体との反応時間を短くしてください。

⑺　姉妹品のご案内

Signal Booster：ウェスタンブロッティングや ELISA 用の抗原抗体反応増強試薬です。作動原理は本試薬と同じです。

Easy-WESTERN：二次抗体を用いないで一次抗体の検出を可能にするウェスタンブロッティング用の一次抗体検出試薬キットです。二次抗体を用いる手法よりも高感度、複数抗原の同時検出可能、ワンステップ検出可能、など種々の使用メリットがあります。

⑺　お問合せ先

株式会社ビークル【製造発売元】
〒607-8465　京都市山科区上花山坂尻 25 近畿ビル 13 号
TEL: 075-582-8505　FAX: 075-582-6055
E-mail：technical-support@beacle.com
Website:　www.beacle.com

Beacle, Inc.